Ampicillin 耐性 enterococci の疫学的研究

畠山　靖子・久保勢津子・渡辺　正治
石山　尚子・斎藤　知子・菅野　治重
千葉大学医学部付属病院検査部*

（昭和 63 年 8 月 25 日受付）

千葉大付属病院検査部で1985年5月より1986年6月の 14 か月間に分離した enterococci 455 株について，菌種の同定および薬剤感受性につき検討したので，その成績を報告する。菌種別に分類すると，*Enterococcus faecalis* 322 株，*Enterococcus faecium* 77 株，*Enterococcus avium* 55 株および *Enterococcus casseliflavus* 1 株であった。

Ampicillin (ABPC) 耐性株 (MIC≧16 μg/ml) は，*E.faecium*，*E. avium*，にみられ *E.faecalis*，*E. casseliflavus* には検出されなかった。ABPC 耐性 *E.faecium*，*E. avium* が良好な感受性を示したのは vancomycin のみで，0.8 μg/ml ですべての株の発育を阻止した。*E. avium* に比べ *E. faecium* は β-ラクタム剤により高度耐性であった。

ABPC 耐性 enterococci が分離された患者の背景では，複数菌分離例，重篤な基礎症患を有するもの，抗菌剤の前投与を受けている例が多かった。

Api 20 STREP で *E.faecium*，*E. avium* と同定された株について，同定項目を追加し性状を FARROW J A E・COLLINS M D，Api 20 STREP，紺野・生方らの成績と比較検討した結果，*E.faecium*，*E. avium* とも 2 つの生物型に分かれた *E.faecium* では感性株が全株 sorbitol 利用能をもたないのに対し，耐性株は 89.5% の株が sorbitol から酸を産生した。*E. avium* では感性株が α-galactocidase 産生能，および raffinose からの酸産生で 66.7% の株が陰性だったのに対し，耐性株では 90% 以上の株が両反応に陽性だった。

Key words: Enterococci, Ampicillin-resistant, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus avium*, Clinical features

腸球菌と称されてきた菌群は最近 enterococci としてレンサ球菌の中から独立し，1986 年では 9 種類が International Joural of Systhmatic Bacteriology (I. J. S. B) に記載されている[1,10,11]。Enterococci は人の腸管の常在菌であり，尿，膿，糞便などの臨床材料より高頻度に検出されるが，その病原性については心内膜炎など特定の疾患を除くと不明な点が多い。

Enterococci の治療には ampicillin (ABPC) が第一選択剤であったが，最近 *Enterococcus faecium*，*Enterococcus avium* を中心に ABPC 耐性株が検出されるようになった[6,9]。本院でも 1982 年に膿汁より初めて 1 株分離され，以後増加傾向にある。

ABPC 耐性の enterococci は多くの抗菌剤にも耐性で，基礎疾患が重篤な患者では本菌感染症の難治化が臨床上の問題になると思われる[6,9]。

I. 実験材料と実験方法

1985 年 5 月から 1986 年 6 月までの 14 か月間に千葉大付属病院検査部で，喀痰以外の各種臨床材料から，純培養または優勢に分離された enterococci 455 株について耐性株を中心に検討した。この際，同一症例からの分離菌は 1 株とし重複株はできるだけ除外した。

ABPC に対する耐性基準は National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)[18] の基準に従い，ABPC に対する MIC が ≧16 μg/ml の株を耐性とした。

Enterococci の同定は，一次同定として胆汁エスクリン培地と 6.5% NaCl 培地での発育を検査し，二次同定として Api 20 STREP（アスカ純薬）で同定した。さらに必要に応じて Api 50 CH（アスカ純薬）により性状を検討した。

* 千葉市亥鼻 1-8-1

Table 1. Frequency of enterococci from clinical materials

Organism \ Material	Urine	Pus	Bile	Blood	Leucorrhoea	Fluid	Total	Percent of strains resistant to ampicillin
Enterococcus faecalis	208 (0)	72 (0)	17 (0)	6 (0)	12 (0)	7 (0)	322 (0)	0
Enterococcus faecium	24 (20)	23 (21)	10 (8)	3 (2)	1 (1)	16 (15)	77 (67)	87.0
Enterococcus avium	9 (6)	29 (19)	7 (5)	1 (1)	3 (0)	6 (6)	55 (37)	67.3
Enterococcus casseliflavus	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0
Total	241 (26)	124 (40)	35 (13)	10 (3)	16 (1)	29 (21)	455 (104)	22.9
Percent of strains resistant to ampicillin	10.8	32.3	37.1	30.0	6.3	72.4	22.9	

( ) Number of strains resistant to ampicillin
1985.5~1986.6 Chiba University Hospital
* Number of strains

Table 2. Susceptibility of enterococci 3 species against ampicillin (cumulative percent inhibition)

Organism \ MIC : μg/ml	0.03	0.13	0.5	2	4	8
Enterococcus faecalis n=322	0.3	0.9	33.5	98.5	99.7	100%
Enterococcus faecium n=77		0	3	10	12	13
Enterococcus avium n=55		0	9	31	31	33

Microdilution broth method, MHB, inoculum size 1.5×10[5] cfu/ml, 37°C, 18 h culture
n=Number of strains (1985.5~1986.6)

MIC (minimal inhibitory concentration) 測定は：MIC 2000 System (Dynatech 社) による微量液体希釈法で行なった。Ca^{2+} (50 mg/l), Mg^{2+} (25 mg/l) 加 Mueller-Hinton Broth (Difco) を用い, 接種菌量 1.5×10^5 cfu/ml とし, 37°C, 18 時間培養後, 増殖の有無を判定した。MIC 判定後のプレートを自動接種器を用いて, 薬剤の含有しない Mueller Hinton Agar (Difco) に接種し, 37°C で一夜培養後, 菌の発育が認められない最小濃度を最小殺菌濃度 minimum bactericidal concentration (MBC) とした。この方法では 99.9% 殺菌をもって MBC となる。検討した抗菌剤は, ABPC, fosfomycin (FOM)：明治製菓, piperacillin (PIPC)：富山化学, benzylpenicillin (PCG), amikacin (AMK)：萬有製薬, cephalothin (CET), vancomycin (VCM), sulfamethoxazole/trimethoprim (ST)：塩野義製薬, cefotiam (CTM)：武田薬品, ceftizoxime (CZX), cefazolin (CEZ)：藤沢薬品, gentamicin (GM)：エッセクス日本, minocylin (MINO)：日本レダリー, chloramphenicol (CP)：三共, erythromycin (EM)：大日本製薬, clindamycin (CLDM)：日本アップジョン, cefpiramide (CPM)：山之内製薬, rifampicin (RFP), ofloxacin (OFLX)：第一製薬, で各製薬会社より純末の提供を受けた。

II. 成 績

1. 分離 enterococci の菌種別, 検体別分離状況

Enterococci の菌種別, 検体別分離状況を Table 1 に示した。菌種別にみて最も多い菌種は *Enterococcus faecalis* 322 株で全体の 71% を占め, 次いで *Enterococcus faecium* 77 株 (17%), *Enterococcus avium* 55 株 (12%), *Enterococcus casseliflavus* 1 株の順で分離された。検体別にみるといずれの検体でも *E.faecalis* が最も多く, 特に尿で 208 株 (65%) と多かった。*E.faecium*, *E. avium* は尿に比べ膿からの分離が多かった。各検体からの enterococci 各菌種の ABPC 耐性株の分離率は, *E.faecium* 77 株中 67 株 (87.0%), *E. avium* 55 株中 37 株 (67.0%) で, *E.faecalis* 322 株には ABPC 耐性株は認められなかった。検体別では ABPC 耐性株は体液 (72.4%), 胆汁 (37.1%), 膿 (32.3%), 血液 (30.0%), 尿 (10.8%), 帯下 (6.3%), の順で検出率が高かった。

2. Enterococci 3 菌種の ABPC に対する感受性

E.faecalis, *E.faecium*, *E. avium* の ABPC に対する MIC の累積百分率を Table 2 に示した。*E.faecalis* 322 株の感受性は ABPC には 8 μg/ml ですべての株の発育が阻止され, ABPC 耐性株は認められなかった。*E. faecium* 77 株の感受性は *E.faecalis* と異なり ABPC 8 μg/ml で 13% の株のみが発育を阻止された。*E. avium* 55 株の感受性は ABPC 8 μg/ml で 33% の株の発育が阻止され, *E. faecalis* と *E.faecium* の中間の MIC を示した。

3. ABPC 耐性 Enterococci の他剤に対する薬剤感受性

ABPC 耐性の *E.faecium* および *E. avium* につき, 各種抗菌剤に対する感受性を検討した。Table 3 に示したように *E.faecium* の ABPC に対する MIC は 50~400 μg/ml に分布し, 90% の株の発育を阻止する濃度 (MIC_{90}) は 100 μg/ml であった。PIPC および各セフェム剤にも強い耐性を示し, MIC_{90} はすべて 400 μg/ml 以上であった。β-ラクタム系以外の抗菌剤では, VCM では 0.8 μg/ml, CP では 25 μg/ml で全株の発育が阻止され, 次いで MINO では 12.5 μg/ml で 86%, RFP には 12.5 μg/ml で 79% の株の発育が阻止された。Table 4 に示したように *E. avium* は ABPC に対し 12.5~50 μg/ml と, *E.faecium* に比べ MIC は低かった。本菌は

Table 3. Susceptibility of ampicillin-resistant *Enterococcus faecium* 29 strains against 12 antibiotics

antibiotic \ MIC: μg/ml	≦0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	6.3	12.5	25	50	100	200	400	MIC_{90}	MBC_{90}
ABPC								0	31	90	97	100	100	200
PCG								0	3	55	100		200	200
PIPC										0	3	59	>400	>400
CEZ												0	>400	>400
CPM												0	>400	>400
CZX												0	>400	>400
CP				0	10	86	97	100					12.5	>100
MINO			7	7	21	72	86	93	97	100			25	100
VCM	0	14	100										0.8	> 25
RFP		3	3	7	14	38	79	100					25	> 50
ST				7	48	72	93	100					12.5	200
OFLX				0	3	62	100						12.5	12.5

1) MIC_{90} : lowest antibiotic concentration which inhibited ≧90% of strain.
2) MBC_{90} : lowest antibiotic concentration which killed ≧90% of strain.
Microdilution broth method, MHB, inoculum size 1.5×10^5 cfu/ml, 37°C 18-h incubation.
[hatched] not tested

ABPC : ampicillin, PCG : benzylpenicillin, PIPC : piperacillin CEZ : cefazolin, CPM : cefpiramide, CZX : ceftizoxime, CP : chloramphenicol, MINO : minocycline, VCM : vancomycin, RFP : rifampicin, ST : sulfamethoxazole/trimethoprim, OFLX : ofloxacin

Table 4. Susceptibility of ampicillin resistant *Enterococcus avium* 16 strains against 12 antibiotics

antibiotic \ MIC : μg/ml	≦0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	6.3	12.5	25	50	100	200	400	MIC_{90}	MBC_{90}
ABPC						0	19	94	100				25	50
PCG							0	25	100				50	50
PIPC									0	19	88	100	400	400
CEZ											0	31	>400	>400
CPM									0	13	56	81	>400	>400
CZX												0	>400	>400
CP					0	44	50	56	100				50	50
MINO				0	6	63	100						25	100
VCM		0	100										0.8	> 25
RFP		25	31	63	81	88	94	94	94				12.5	> 50
ST				63	100								3.2	50
OFLX			0	13	100								3.2	6.3

1) MIC_{90} : lowest antibiotic concentration which inhibited ≧90% of strains.
2) MBC_{90} : lowest antibiotic concentration which killed ≧90% of strains.
Microdilution broth method, MHB, inoculum size 1.5×10^5 cfu/ml, 37°C 18-h culture.
(hatched) not tested

ABPC : ampicillin, PCG : benzylpenicillin, PIPC : piperacillin, CEZ : cefazolin, CPM : cefpiramide, CZX : ceftizoxime, CP : chloramphenicol, MINO : minocyclin, VCM : vancomycin, RFP : rifampicin, ST : sulfamethoxazole/trimethoprim, OFLX : ofloxacin

Table 5. Susceptibility of enterococci against 4 antibiotics

erythromycin

Organism \ μg/ml	≦0.5	1～4	≧8
Enterococcus faecium n=77	2 (3)	35 (45)	40* (52)
Enterococcus avium n=55	19 (35)	5 (9)	31 (56)

gentamicin

Organism \ μg/ml	≦4	8	≧16
Enterococcus faecium n=77	5 (6)	2 (3)	70 (91)
Enterococcus avium n=55	21 (38)	14 (26)	20 (36)

amikacin

Organism \ μg/ml	≧16	32	≧64
Enterococcus faecium n=77	1 (1)	4 (5)	72 (94)
Enterococcus avium n=55	4 (7)	2 (4)	49 (89)

clindamycin

Organism \ μg/ml	≦0.5	1～4	≧8
Enterococcus faecium n=77	35 (46)	5 (7)	37 (48)
Enterococcus avium n=55	5 (9)	18 (33)	32 (58)

* Number of strains
( ) %　　1985.5～1986.6

E.faecium ほどではないが，他の β-ラクタム剤にも高い MIC を示し，PIPC およびセフェム剤には MIC_{90} は 400 以上と高かった。β-ラクタム系以外では VCM では 0.8 μg/ml，ST，OFLX では 3.2 μg/ml，MINO では 25 μg/ml，CP では 50 μg/ml で，すべての株の発育が阻止され，CP を除き *E.faecium* より感性の傾向がみられた。*E. faecium*，*E. avium* が良好な感受性を示したのは VCM のみで 0.8 μg/ml ですべての株の発育が阻止されたが，しかし 90% の株を殺菌した濃度 MBC_{90} は ≧25 μg/ml と高く，MIC と MBC に差がみられた。

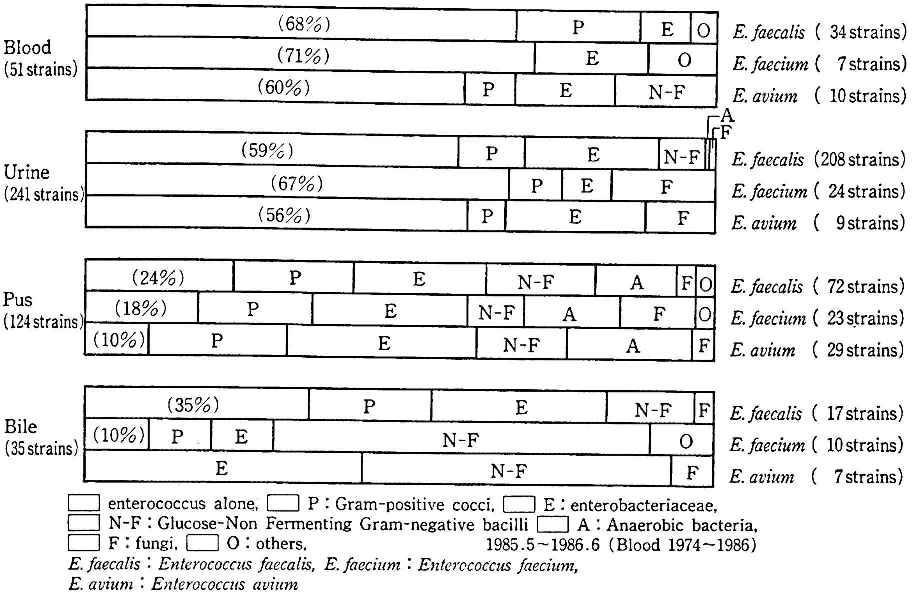

Fig. 1. Concomitant isolates of Enterococci

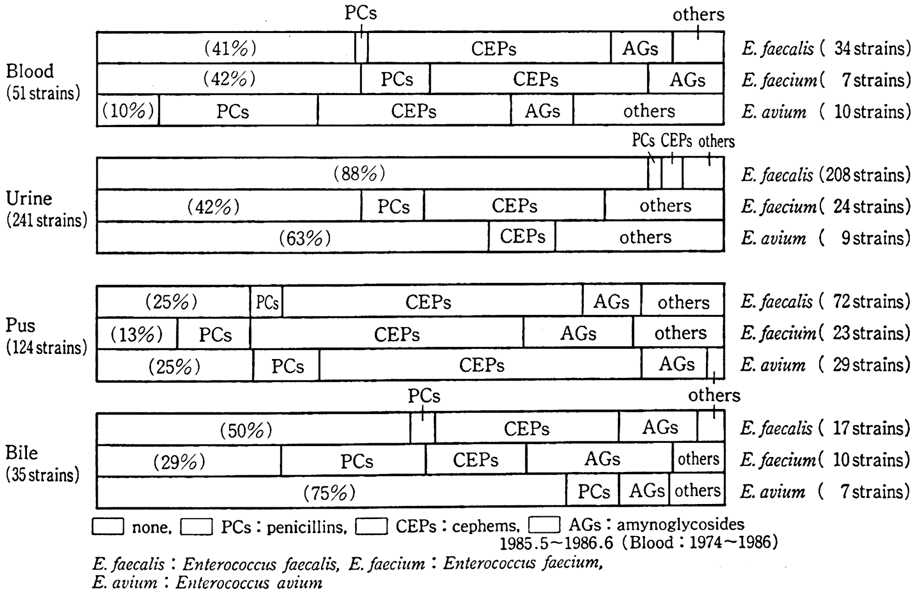

Fig. 2. Previous antibiotic therapy

4. EM, GM, AMK, CLDM に対する薬剤感受性

EM, GM, AMK, CLDM の日常検査における感受性の成績を Table 5 に示した。EM に対する感受性は *E. faecium*, *E. avium* とも半数以上の株が ≧8 μg/ml に分布し，*E. faecium* は NCCLS の基準で感性となる ≦0.5 μg/ml の株は2株のみだった。GM に対する感受性は *E. faecium* では 91% の株が ≧16 μg/ml に分布したのに比べ *E. avium* の MIC は *E. faecium* より低く，MIC≦4 μg/ml の株が 38%，8 μg/ml の株が 26% あった。AMK に対し MIC≧64 μg/ml に分布する株は，*E. faecium* では 94%，*E. avium* では 89% であった。CLDM に対し ≦0.5 μg/ml に分布する株は，*E. faecium* では 35 株 (46%)，*E. avium* 5 株 (9%)，と他剤とは反対に *E. faecium* の方が低い MIC を示した。

5. Enterococci の検体別同時分離菌

Enterococci の検体別同時分離菌の内訳を Fig. 1 に

Table 6. Cocomitant isolates of enterococci

materials	Organisms		Gram (+) cocci							Entero bacteria											N-F-B					anaerobic bacteria							other		Total	
		alone	Coagulase-negative staphylococci	Coagulase-positive staphylococci	Other *Enterococcus*	*α-Streptococcus*	*β-Streptococcus*	Group-B-*Streptococcus*	*Streptococcus milleri*	*Escherichia coli*	*Klebsiella pneumoniae*	*Klebsiella oxytoca*	*Enterobacter cloacae*	*Enterobacter aerogenes*	*Citrobacter freundii*	*Proteus mirabilis*	*Proteus* sp.	*Morganella morganii*	*Serratia marcescens*	*Serratia* sp.	*Acinetobacter calcoaceticus*	*Achromobacter xylosoxidans*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Pseudomonas cepacia*	Other	*Bacteroides fragilis*	*Bacteroides* sp.	*Clostridium perfringens*	*Clostridium* sp.	*Veillonella*	*Peptostreptococcus*	Gram (+) bacilli	Gram (+) bacilli	*Candida*	Strarins	Cases
Urine	*Enterococcus faecalis*	123	9	10	6	1		2		21	15	2	6		1	4	2	4	4		1	1	13		5		1							3	234	208
	Enterococcus faecium	16			2					2																								4	24	24
	Enterococcus avium	5			1					2																								1	9	9
Pus	*Enterococcus faecalis*	17	8	9	3				1	9	3		7	1				1	2		3	1	14	1		6	2	1		1	4	1	3	3	101	72
	Enterococcus faecium	6	3	3						3			2						3				3			3			1		1		1	4	33	23
	Enterococcus avium	3	4	4	3					5	3		1		1	1	2	3		1			8			6					3	2		2	53	29

1985.5~1986.6

N-F-B : Glucose-Non Fermenting Gram-negative bacilli

Table 7. Differential characteristics of *Enterococcus avium*

Characteristic \ Reference	J.A.E. Farrow[1)] M.D. Collins	AP 20 STREP	K. Ubukata[2)]			Y. Hatakeyama[3)]	
group			1	2	3	1	2
ampicillin susceptibility			susceptible (9)*	susceptible (6)	resistant (16)	susceptible (6)	resistant (21)
Hydrolysis of							
Esculin	+	+(100%)	+	+	+	+(100 %)	+(100 %)
Hippurate	V	+(60%)				+(66.7%)	+(95.2%)
Production of							
Arginine dehyd	−	−(100%)	−	−	−	−(100 %)	−(100 %)
α-galactosidase	−	−(94%)	V	+(−)	+(−)	−(66.7%)	+(90.5%)
β-galactosidase	V	−(99%)	V	−	−	−(100 %)	−(100 %)
Acid production from							
L-Arabinose	+	−(60%)	+	+	+	−(60 %)	+(95.2%)
D-Xylose	−		−	−	−	−(100 %)	−(66.7%)
Raffinose	−	−(60%)	−	+(−)	+	−(66.7%)	+(95.2%)
Melezitose	+		+	+	+	+(100 %)	+(95.2%)
Sorbitol	+	+(99%)	+	+	+	+(83.3%)	+(100 %)
Pigment	−		−	−	−	−(100 %)	−(100 %)

1) reference[1), 11)]
2) Teikyo University
3) Chiba University

* Number of strains

Table 8. Differential characteristics of *Enterococcus faecium*

Characteristic \ Reference	J.A.E. Farrow[1) M.D. Collins	API 20 STREP			K. Ubukata[2)			Y. Hatakeyama[3)	
group		1	2	3	1	2	3	1	2
ampicillin susceptibility					susceptible (2)*	susceptible (7)	resistant (56)	susceptible (4)	resistant (38)
Hydrolysis of									
Esculin	+	+(100%)	+(100%)	+(100%)	+	+	+	+(100%)	+(100 %)
Hippurate	+	+(66%)	+(96%)	−(99%)				−(67%)	+(81.6%)
Production of									
Arginine dehyd	+	+(99%)	+(99%)	+(66%)	+	+	+	+(100%)	+(97.4%)
α-galactosidase	−	−(95%)	+(90%)	+(90%)	+	+	V	+(50%)	+(92.1%)
β-galactosidase	+	+(88%)	+(99%)	+(98%)	+	+	+	+(100%)	+(97.4%)
Acid production from									
L-Arabinose	+	+(98%)	+(60%)	+(99%)	+	+	+	+(100%)	+(100 %)
D-Xylose	−(+)				+	V	V	+(50%)	−(57.9%)
Raffinose	−	−(99%)	+(99%)	+(99%)	+	V	−	−(75%)	−(63.2%)
Melezitose	−				−	−	−	−(100%)	−(73.7%)
Sorbitol	−	−(94%)	−(85%)	−(85%)	−	−	+(−)	−(100%)	+(89.5%)
Pigment	−	−	−	−	−	−	−	−(100%)	−(100 %)

1) reference[1), 11)
2) Teikyo University
3) Chiba University

* Number of strains

Table 9. Differential characteristics of *Enterococcus casseliflavus*

Reference / Characteristic	J.A.E. Farrow[1) M.D. Collins	API 20 STREP (included *Enterococcus faecium*)			K. Ubukata[2)	Y. Hatakeyama[3)
group		1	2	3	1	1
ampicillin susceptibility					susceptible (2)*	susceptible (3)
Hydrolysis of						
Esculin	+	+(100 %)	+(100%)	+(100%)	+	+(100 %)
Hippurate	−	+(66.6%)	+(96%)	−(99%)		−(100 %)
Production of						
Arginine dehyd	+(−)	+(99 %)	+(99%)	+(65%)	+	−(100 %)
α-galactosidase	+	−(95 %)	+(90%)	+(90%)	+	+(100 %)
β-galactosidase	+	+(88 %)	+(99%)	+(98%)	+	+(100 %)
Acid production from						
L-Arabinose	+	+(98 %)	+(60%)	+(99%)	+	+(100 %)
D-Xylose	+				+	+(100 %)
Raffinose	+(−)	−(99 %)	+(99%)	+(99%)	+	+(100 %)
Melezitose	−				−	−(100 %)
Sorbitol	−	−(94 %)	−(85%)	−(85%)	V	+(66.7%)
Pigment produced	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow(100%)

1) reference[1), 11)
2) Teikyo University
3) Chiba University

* Number of strains

示した。Enterococci 属は尿以外の検体では悪性症患の患者から高率に分離され，同時検出菌の有無では，血液培養では *E.faecalis*, *E.faecium*, *E. avium* 共 30～40% が複数菌として検出され，同時期における当院の血液培養全体の複数菌分離例が 7% であったのに比べ，著しく高率であった。尿では単独分離例は *E.faecalis* 59%，*E.faecium* 67%，*E. avium* 56% であった。膿はもともと2菌種以上の分離が多い検体であるが，*E.faecalis*, *E.faecium* の単独分離例は 20% 前後で，*E. avium* では 10% あり，これは同期間における膿での黄色ブドウ球菌の単独検出率 75% と比べ低い値だった。胆汁でも *E. faecalis* で 65%，*E.faecium* では 90%，*E. avium* はすべて複数菌として検出された。

検体数の多かった尿と膿汁の同時分離菌につき，さらに詳細に検討した成績を Table 6 に示した。

6. 菌分離時の前投与菌剤

菌分離時の前投与抗菌剤の状況を Fig. 2 に示した。Enterococci は抗菌剤の投与を受けている例より検出される頻度が高く，血液では *E.faecalis*, *E.facium* では約 60%，*E. avium* では 90% の例が抗菌剤の前投与を受けていた。尿では *E.faecalis* は抗菌剤投与例からの分離が 12% と低いのに比べ，*E.faecium* では 62%，*E. avium* では 37% が投与例からの分離であった。膿では抗菌剤投与例からの分離が，*E.faecalis*, *E. avium* で 75%，*E.faecium* で 87% であり，胆汁では，*E.faecalis* で 50%，*E. faecium* で約 71%，*E. avium* で 25% が抗菌剤投与例から分離されていた。投与抗菌剤ではセフェム剤，ペニシリン剤，アミノ配糖体剤の順で投与されていた。併用例ではセフェム剤とペニシリン剤，セフェム剤とアミノ配糖体剤の組み合わせが多かった。

7. Enterococci の性状の比較

Api 20 STREP で *E.faecium*, *E. avium* と同定された株につき，さらに同定項目を追加し性状を FARROW J A E・COLLINS M D, Api 20 STREP，紺野・生方らの成績と比較した。追加性状の検査は API 50 CH で行なった。Table 7 に示したように，*E. avium* 27 株のうち ABPC 感性株 6 株では α-galactocidase 産生能，および raffinose からの酸産生で 66.7% の株が陰性なのに対し，ABPC 耐性株 21 株では 90% 以上の株が両反応に陽性であった。

E.faecium 42 株のうち ABPC 感性株 4 株では sorbitol の利用能が全株陰性なのに対し，ABPC 耐性株 38 株では 89.5% の株が陽性であった (Table 8)。

なお Api 20 STREP で *E.faecium* と同定された株で黄色い色素を産生する株が見られ，それは *E. casseliflavus* と同定された[4,5]。前記期間以降に分離された2株を加えた *E. casseliflavus* 3 株では Arginine hydrolase が3株共陰性で，FARROW J A E・COLLINS M D，紺野・生方らの性状と異なった。

III. 考 察

今回分離した enterococci の中では，*E. faecalis* の分離が全検体を通して最も多かったが，ABPC 耐性株は *E.faecium*, *E. avium* に限られ，*E.faecalis* は認められなかった。紺野・生方らは β-ラクタム剤の投与により *E.faecium* では PBP5 が誘導され産生量が増加し耐性化するが，*E.faecalis* はそのような現象は認められず，このため *E.faecalis* には ABPC 高度耐性菌が検出されないと報告している[6,9]。

Enterococci は病原性が低いため検出されても，治療の対象となるか否か，臨床的に問題の多い菌種であるが enterococci が原因となる重要な感染症には心内膜炎があり，もし耐性株による感染性心内膜炎が発生すれば治療は非常に困難となる。島田らは 1982 年に ABPC 耐性 *E.faecium*, *E. avium* による菌血症を3例報告している[12]。

Enterococci には ABPC が第一選択剤であるが，今回のような ABPC 耐性株に *in vitro* で有効な薬剤は VCM のみであり，今後その臨床的有用性の評価が期待される。しかし VCM は日本ではまだ静注薬として認可されておらず，発疹，腎障害などの副作用も多いことから，その適切な使用法は慎重に検討される必要がある。本院では，ABPC 耐性 *E. avium* による髄膜炎に VCM を投与し治癒せしめた例がある[8]。VCM を除くと，*E. faecium* には CP, ST, OFLX, *E. avium* には ST, OFLX が比較的低い MIC を示したが，臨床での有用性は充分証明されていない。GM, AMK に低い MIC を示した株もあったが，NCCLS ではアミノ配糖体系は enterococci には適応がなく，感受性成績は報告するべきではないとされている。また ABPC と FOM の併用は一部の ABPC 耐性 enterococci に対して相乗効果が認められている[15]。

Enterococci が分離された患者の背景では複数菌分離例が多く，基礎疾患も重篤で，抗菌剤投与を受けている患者が多く，菌交代症として検出される可能性が高い菌種と考えられる。今回は ABPC 感性株分離例と耐性株分離例の患者背景に有意な差はみられなかった。

Api 20 STREP で *E.faecium*, *E. avium* と同定された株につき性状を検討した結果，*E.faecium*, *E. avium* はそれぞれ2つの生物型に分かれた *E.faecium* では感性株が sorbitol 利用能をもたないのに対し耐性株は 89.5% の株が sorbitol から酸を産生した。*E. avium* では感性株が α-galactocidase 産生能，および raffinose

からの酸産生で 66.7%の株が陰性だったのに対し，耐性株では 90% 以上の株が両反応に陽性だった。FARROW J A E・COLLINS M D，紺野・生方，Api 20 STREP の成績を比較すると *E. faecium*，*E. avium* 共，感性株の性状が FARROW J A E・COLLINS M D らの成績に近いと思われる。I. J. S. B に記載されている enterococci は 9 菌種にのぼるが現在 streptococci，enterococci の簡易同定キットとして広く使用されている Api 20 STREP は，この 9 種類の同定には不充分である。

E. faecium，*E. avium* の耐性株が感性株とまったく異なる菌種なのか，1つの菌種の中での変異なのか，その点の解明は今後に残されている。なお前記期間後に，膿から ABPC 耐性 *E. casseliflavus* が 1 株分離された。ABPC 耐性 enterococci の出現により疫学的検討には今後 enterococci 属の specis レベルまでの同定が必要と思われる。

文　　献

1) COLLINS M D, FARROW J A E, JONES D : *Enterococcus mundii* sp. nov. I. J. S. B., 36 : 8〜12, 1986
2) MUNDT J O, GRAHAM W F : *Streptococcus faecium* var. *casseliflavus*, nov. var. J. Bacteriol., 95 : 2005〜2009, 1968
3) WHTTENBURY R : The Differentiation of *Streptococcus faecalis* and *S. faecium*. J. gen. Microbiol. 38 : 279〜287, 1965
4) TAYLOR R F, IKAWA M, CHESBRO W : Carotenoids in Yellow-Pigmented Entorococci, J. Bacteriol., 105 : 676〜678, 1971
5) VAUGHAN D H, RIGGSBY W S, MUNDT J O : Deoxyribonucleic Acid-Relatendness of Strains of Yellow-Pigmented, Group-D streptococci. I. J. S. B., 29 : 204〜212, 1979
6) FONTANA R, GROSSATO A, ROSSI L, CHENG Y R, SATTA G : Transition from Resistance to Hypersusceptibility to β-lactam Antibiotics Associated with Loss of a Low-Affinity Penicillin-Binding Protein in a *Streptococcus faecium* Mutant Highly Resistant to Penicillin. Antimicrob. Agents Chemoter. 28 : 678〜683, 1985
7) 島田 馨，安達桂子，田中喜久子，上条仁子，佐々木宗男，畠山 勤，稲松孝思，浦山京子，岡慎一：Ampicillin 耐性腸球菌の分離状況と薬剤感受性。Chemotherapy 32 : 508〜510, 1984
8) 菅野治重，渡辺正治，長谷川尚子，久保勢津子：多剤耐性 *Enterococcus avium* による髄膜炎の一例。感染症 15 : 193〜195, 1985
9) WILLIAMSON R, BOUGUENEC C I, GUTMANN I, HORAUD T : One or Two Low Affinity Penicillin-binding proteins May Be Responsible for the Range of Susceptibility of *Enterococcus faecium* to Benzylpenicillin. J. Gen. Microbiol. 131 : 1933〜1940, 1985
10) FARROW J A E, COLLINS M D : *Enterococcus hirae*, a New Species That Includes Amino Acid Assay Strain NCDO 1258 And Strains Causing Growth Depression in Young Chickens. I. J. S. B., 35 : 73〜75, 1985
11) COLLINS M D, JONES D, FARROW J A E, KILPPER-BALZ R, SCHLEIFER K H : *Enterococcus avium* nov., comb. nov.; *E. casseliflavus* nom. rev., comb. nov.; *E. durans* nom. rev., comb. nov.; *E. gallinarum* comb. nov.; and *E. malodoratus* sp. nov. I. J. S. B., 223, 1984
12) 島田 馨，安達桂子，田中喜久子，佐々木宗男，畠山 勤，上条仁子，稲松孝思，浦山京子，岡慎一：腸球菌敗血症に関する研究—第一報。Chemotherapy 32 : 435〜438, 1984
13) 金子裕憲，北原 研，富永登志，岸 洋一，新島端夫：*Streptococcus faecalis* の分離された尿路感染症の臨床的検討。Chemotherapy 32 : 685〜691, 1984
14) GARVIE E I : *Streptococcus raffinolactis* Orla-Jensen and Hansen, a Group N Streptococcus Found in Raw Milk. I. J. S. B., 28 : 190〜193, 1978
15) 高橋公毅，菅野治重，陳 瑞明：Ampicillin と他の抗菌剤との併用効果。Chemotherapy 35 : 386〜393, 1987
16) MUNDT J O, GRAHAM W F, MCCARTHY I E : Spherical Southern-grown Raw and. Processed Vegetable. Microbiology. 15 : 1303〜1308, 1967
17) BALL R J, SELLERS W : Improved Motility Medium. Microbiology. 14 : 670〜673, 1966
18) National Committee for Clinical Laboratory Standards Tentative Standard M 7-T. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa, 1985
19) TOFTE R W, SOLLIDAY J, CROSSLEY K B : Susceptibilities of Enterococci to Twelve Antibiotics. Antimicrob. Agents Chemother. 25 : 532〜533, 1984
20) MURDT J O : Occurrence of Enterococci on Plants in a Wild Environment. Microbiology. 11 : 141〜144, 1962
21) SCHLEIFER K H, KILPPER-BALZ R : Transfer of *Streptococcus faecium* to the Genus. Enterococcus nov. rev as *Enterococcus faecalis* comb. vov. and *Enterococcus Faecium* comb. nov. I. J. S. B., 34 ; 31〜34, 1984
22) 江崎孝行：レンサ球菌の分類。検査と技術 16 : 511〜515, 1988
23) 紺野昌俊，生方公子：第 34 回日本化学療法学会

総会パネルディスカッション「腸球菌感染症」, 1986

EPIDEMIOLOGIC STUDY OF AMPICILLIN-RESISTANT ENTEROCOCCI

Yasuko Hatakeyama, Setsuko Kubo, Masaharu Watanabe,
Hisako Ishiyama, Tomoko Saitoh and Harushige Kanno

Clinical Laboratory Chiba University Hospital, 1-8-1 Inohana Chiba-City, Chiba, 280 Japan

During the 14 months from May 1985 to June 1986, enterococci were isolated from clinical materials at Chiba University Hospital.

During this period, 429 strains were collected, of which 309 were *Enterococcus faecalis*, 65 *Enterococcus faecium*, 52 *Enterococcus avium*, and 2 *Enterococcus durans*. Ampicillin (ABPC)-resistant strains (MIC : ≧16 μg/ml) were found in *E. faecium*, *E. avium*, and *E. durans*, but in *E. faecalis* no ABPC-resistant strains were found.

After this period, 2 ABPC-resistant strains were found in *Enterococcus casseliflavus*. *E. faecium* isolates were the most resistant of the enterococcal strains against β-lactams, and ABPC-resistant strains in all *Enterococcus* spp. were susceptible only to vancomycin. ABPC-resistant strains of *Enterococcus* spp. were mainly isolated from the patients who had polymicrobial infections, severe underlying diseases, and antibiotic premedication. Some characteristic differences were found between ABPC-susceptible (MIC : ≦8 μg/ml) and-resistant strains of *E. faecium* and *E. avium*.

In *E. faecium*, not all ABPC-susceptible strains fermented sorbitol, but 89.8% of ABPC-susceptible strains did ; and in *E. avium*, most ABPC-resistant strains produced β-galactocidase and fermented raffinose, whereas few ABPC-susceptible strains showed those characteristics.